

**РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
ЮЖНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
ДОНСКОЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ**



АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ РЫБНОГО ХОЗЯЙСТВА И АКВАКУЛЬТУРЫ БАССЕЙНОВ ЮЖНЫХ МОРЕЙ РОССИИ

**Материалы Международной научной конференции
г. Ростов-на-Дону
1–3 октября 2014 г.**

**Ростов-на-Дону
Издательство ЮНЦ РАН
2014**

**ХАРАКТЕРИСТИКА БАЗОВЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СОСТОЯНИЯ
ГИГАНТСКОЙ УСТРИЦЫ *CRASSOSTERA GIGAS* В УСЛОВИЯХ
КУЛЬТИВИРОВАНИЯ В ГОЛУБОМ ЗАЛИВЕ (КАЦИВЕЛИ, КРЫМ)**

*Е.Н. Скуратовская, И.И. Дорохова, О.Ю. Вялова, Т.Б. Ковыршина, А.В. Завьялов,
Ю.В. Самотой, В.Г. Шайда, И.И. Руднева*

**CHARACTERISTICS OF THE BASIC PARAMETERS OF THE OYSTER
CRASSOSTERA GIGAS CULTIVATED IN THE GOLUBOI BAY
(KATSIVELY, CRIMEA)**

*E.N. Skuratovskaya, I.I. Dorohova, O.Yu. Vyalova, T.B. Kovyrshina, A.V. Zav'yalov,
J.V. Samotoy, V.G. Shaida, I.I. Rudneva*

*Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского, Севастополь, Россия
e-mail: vyalova07@gmail.com*

В настоящее время выращивание моллюсков, включая тихоокеанскую устрицу *Crassostera gigas*, является одним из приоритетных направлений марикультуры во всем мире, что связано с их ценными пищевыми качествами и экономической выгодой (Acarlu et al., 2011). Культивирование моллюсков в Черном море до недавнего времени в основном ограничивалось выращиванием мидий (*Mytilus galloprovincialis*), однако разведение устриц для потребления в пищу человеком становится актуальным в развитии черноморской марикультуры. При этом культивирование моллюсков на морских фермах и адаптация их к условиям Черного моря во многом зависит от температуры, солености, обеспеченности пищей. Оптимальное сочетание этих факторов определяет успешный рост устрицы и, в конечном итоге, получение качественной продукции и высокой урожайности морских хозяйств. Для этого важно знать физиологическое состояние моллюсков, которое хорошо характеризуется следующими показателями – ферменты белкового и углеводного обмена, антиоксидантные ферменты, отражающие функционирование неспецифической защитной системы, а также параметры интенсивности окислительных процессов, свидетельствующие о восприимчивости организма к действию неблагоприятных факторов и способности противостоять им (Zanette et al., 2008). При этом в загрязненных районах моря продукция устриц резко сокращается (Cho, Jeong, 2012), изменяются их биохимические показатели, отражающие ключевые обменные процессы.

Целью настоящей работы было исследование основных параметров, характеризующих физиологическое состояние устрицы *Crassostrea gigas*, выращиваемой на морской ферме в Голубом заливе (пос. Кацивели, Крым).

Материалы и методы

Объектом исследования служила тихоокеанская устрица, выращенная на морской ферме, расположенной в Голубом заливе (пос. Кацивели, Крым). Всего было проанализировано 23 экземпляра, с размерами створок от 54 до 110 мм и массой

моллюсков 20.33–57.38 г. Все исследования проводили индивидуально. У моллюсков извлекали мягкие ткани, гомогенизировали в холодном 0.85 %-ном растворе хлорида натрия, после чего получали экстракты посредством центрифугирования 15 мин при 5 000 g. В экстрактах мягких тканей устриц определяли активность ферментов и показатели перекисного окисления липидов и белков.

Активность антиоксидантных ферментов каталазы (КАТ) и пероксидазы (ПЕР) супероксиддисмутазы (СОД), глутатионредуктазы (ГР) и глутатионтрансферазы (ГТ) определяли спектрофотометрически согласно методам, описанным нами ранее (Rudneva et al., 2010). Активность аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ) и щелочной фосфатазы (ЩФ) анализировали с помощью стандартного набора реагентов фирмы «Филисит» (Украина). Полученные значения экстинкции пересчитывали с учетом содержания белка в экстрактах тканей. Белок определяли по методу Лоури с использованием стандартного набора «Филисит» – «Общий белок» (Украина).

Уровень окислительной модификации белков в сыворотке крови анализировали по методу Дубининой (Дубинина и др., 1995), основанному на реакции взаимодействия окисленных аминокислотных остатков белка с 2,4-динитрофенилгидрозином с образованием 2,4-динитрофенилгидразонов. Оптическую плотность образовавшихся 2,4-динитрофенилгидразонов регистрировали при длинах волн OD 346, 370, 430, 530 нм на спектрофотометре «Spescol -211» (Германия). Параметры перекисного окисления липидов – ТБК-реактивных соединений анализировали общепринятым методом с тиобарбитуровой кислотой (Стальная, Гаришвили, 1977). Хемилюминесценцию экстрактов мягких тканей устриц определяли на Люминометре 2010 (LKB, Швеция), свечение инициировали H_2O_2 и $FeSO_4$ (Владимиров, 2001).

Результаты исследований обработаны статистически и выражены в форме $M \pm m$ (Лакин, 1990).

Результаты

Результаты исследований позволили установить наличие активности всех тестируемых ферментов в тканях устриц, за исключением супероксиддисмутазы (Табл. 1). При этом в наибольшей степени варьировала активность ферментов АЛТ, ЩФ, ГР, флуктуации остальных исследуемых энзимов проявлялись в меньшей степени.

Таблица 1

Активность некоторых ферментов в тканях устриц *Crassostrea gigas*

Фермент	Активность, на мг белка	Пределы значений
АЛТ мкмоль/час	0.12 ± 0.022	0.01–0.35
АСТ мкмоль/час	0.22 ± 0.01	0.14–0.32
ЩФ нмоль/с	520.08 ± 54.86	134.28–1364.66
КАТ мг H_2O_2 /мин	0.043 ± 0.002	0.026–0.066
ПЕР опт.ед./мин	0.02 ± 0.001	0.01–0.036
ГР нмоль НАДФН/мин	1.31 ± 0.17	0.64–2.56
ГТ нмоль конъюгата/мин	10.41 ± 1.08	4.32–18.13

Показатели перекисного окисления липидов приведены в таблице 2. По сравнению с активностью тестируемых ферментов показатели ПОЛ варьировали менее значительно. На рисунке 1 приведено соотношение содержания окисленных форм белков в тканях мидий. Как можно видеть, максимальный уровень модифицированных компонентов отмечен при длине волны 370 нм, минимальный – при 530 нм.

Таблица 2

Показатели ПОЛ в тканях устриц *Crassostrea gigas*

Показатели ПОЛ	Содержание на мг белка	Пределы значений
МДА мкмоль	6.4 ± 0.3	4.76–9.79
ХЛ, единицы свечения	0.91 ± 0.03	0.62–1.25

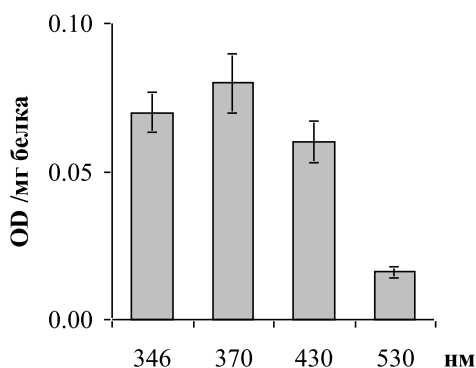


Рис. 1. Содержание модифицированных форм белков в тканях устрицы *Crassostrea gigas*, $M \pm m$. OD –оптическая плотность при соответствующей длине волны.

Обсуждение

Определение активности ферментов, в том числе антиоксидантных в морепродуктах имеет не только теоретическое значение, но и практическое, так как многие из них применяются для получения биологически активных соединений, используемых в медицине. В частности, было показано, что препарат из устрицы *C.gigas* может стимулировать систему эндогенной элиминации перекиси водорода, однако сам экстракт при этом не обладает антиоксидантными свойствами (Yoshikawa et al., 1997). Это согласуется с нашими данными, показавшими низкие значения активности антиоксидантных ферментов в исследуемых экстрактах мягких тканей моллюсков. В тканях устриц не обнаружено активности СОД, а активность каталазы и пероксидазы достаточно низкая и имеет сходство с соответствующими значениями в тканях мидий (0.025 ± 0.006 – 0.033 ± 0.006 мг H_2O_2 /мг белка/мин и 0.039 ± 0.008 – 0.057 ± 0.009 оптических единиц мг белка/мин, соответственно) (Руднева, 1996).

Следует отметить, что активность ферментов защитной антиоксидантной системы может существенно различаться даже у близкородственных видов устриц, находящихся в разных экологических условиях. Было показано, что при исследо-

ваниях воздействия хозяйственно-бытовых стоков *in situ* на состояние двух видов устриц *C. rhizophorae* и *C. gigas* ответные реакции моллюсков были различны. При этом отклик *C. rhizophorae* был более значителен, что выразилось в существенном усилении активности КАТ. На этом основании авторы сделали вывод, что именно этот вид может быть выбран в качестве биомонитора при оценке влияния на биоту бытовых стоков (Zanette et al., 2008).

Содержание ТБК-реактивных продуктов в тканях устриц составило 6.4 ± 0.3 нмоль на мг белка, показатели ХЛ – 0.91 ± 0.03 OD на мг белка, которые в целом близки к значениям, характерным для тканей рыб и морских беспозвоночных (Руднева, 1996; 1998). Профиль содержания различных модифицированных форм белков в тканях устриц также в целом совпадает с таковым, обнаруженным нами в тканях черноморских рыб (Руднева и др., 2011). Как и у рыб в тканях устриц доминируют компоненты, определяемые при длине волны 370 нм.

Таким образом, исследуемые показатели тканей устриц могут быть предложены для оценки состояния моллюсков при выращивании в зонах с повышенной рекреацией, а также для мониторинга экологической ситуации в акваториях вблизи расположения морских ферм.

Список использованной литературы

1. Владимиров Ю.А. Активированная хемилюминесценция и биолюминесценция как инструмент в медико-биологических исследованиях // Соросовский образовательный журнал. 2001. Т. 7. С. 16–20.
2. Дубинина Е.Е., Бурмистров С.О., Ходов Д.А., Поротов И.Г. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения // Вопр. мед. химии. 1995. Т. 41. № 1. С. 24.
3. Лакин Р.Ф. Биометрия. М: Высшая школа, 1990. 352 с.
4. Руднева И.И. Соотношение процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной активности в тканях черноморской мидии // Гидробиологический журн. – 1996. – Т. 32, N 5. – С. 50–57.
5. Руднева И.И. Эколого-филогенетические особенности липидного состава и перекисного окисления липидов у хрящевых и костистых рыб Черного моря // Журн. эвол. биохимии и физиологии. 1998. Т. 34. № 3. С. 310–318.
6. Руднева И.И., Скуратовская Е.Н., Омельченко С.О., Залевская И.Н., Дорохова И.И., Граб Ю.А. Биоиндикация экологического состояния морских акваторий с помощью биомаркеров рыб // Водные ресурсы. 2011. Т. 38. № 1. С. 92–97.
7. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты. Современные методы в биохимии. М.: Медицина, 1977. С. 62–64.
8. Acarli S. Aynur, Lok A., Aysun Küçükdermenci A., Harun Yildiz H., Serpil Serdar S. Comparative Growth, Survival and Condition Index of Flat Oyster, *Ostrea edulis* (Linnaeus 1758) in Mersin Bay, Aegean Sea, Turkey. // Kafkas Univ Vet Fak Derg. 2011. V. 7. № 2. С. 203–210.

9. Eun-Seob Cho, Hee-Dong Jeong. Effect of environmental impact to molecular expression of heat-shock protein (HSP70) in oyster *Crassostrea gigas* from Gamak bay, Korea. // J. Environ. Biol. 2012. 33. P. 609–615.
10. Rudneva I.I., Skuratovskaya E.N., Kuzminova N.S., Kovyrshina T.B. Age composition and antioxidant enzyme activities in blood of Black Sea teleosts. //Comparative Biochemistry and Physiology. Part C. 2010. Vol. 151. P. 229–239.
11. Yoshikawa T., Naito Y., Masui K., Fujii T., Boku Y., Nakagawa S., Yoshida N., Kondo M. Free radical-scavenging activity of *Crassostrea gigas* extract (JCOE) // Biomed & Pharmacother. 1997. 51. P. 328–332.
12. Zanette J., Nunes F. F., Medeiros I. D., Siebert M. N., Mattos J. J., Lchmann K. H., C. M. Rodrigues de Melo C. M., Bainy A. C. D.. Comparison of the antioxidant defense system in *Crassostrea rhizophorae* and *Crassostrea gigas* exposed to domestic sewage discharges// Marine Environmental Research. 2008. 66. P. 196–198.